



Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales  
Universidad Nacional de La Plata



## TRABAJO FINAL DE CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

**SERRA, Carolina**

### DETERMINACIÓN DE UN PROTOCOLO DE PROPAGACIÓN POR ESTACAS DE EJEMPLARES MASCULINOS DE *FRAXINUS* *PENNSYLVANICA* MARSHALL PARA ARBOLADO URBANO

**Modalidad del trabajo:** Investigación sobre una temática específica de la carrera

**Directora:** Dra. Ing. Forestal Marcela Ruscitti

**Co-Director:** Ing. Forestal Fabián Pérez

La Plata, 7 diciembre de 2017

# ÍNDICE

---

ÍNDICE.....	1
RESUMEN.....	2
INTRODUCCIÓN .....	3
HIPÓTESIS .....	13
OBJETIVOS .....	13
MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	18
CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES.....	34
BIBLIOGRAFÍA .....	36

## RESUMEN

---

Con una apropiada planificación y manejo, el arbolado urbano puede ofrecer numerosos beneficios, entre ellos podemos mencionar los paisajísticos, ambientales, ecológicos, sociales, económicos. Una de las especies más reconocidas y abundantes en el arbolado urbano es el fresno americano (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh.). Pertenece a la familia Oleaceae, originaria de Estados Unidos y Canadá. Particularmente en la provincia de Buenos Aires, la Estación Forestal Parque Pereyra Iraola provee material para el arbolado urbano y periurbano a los distintos municipios. Actualmente la reproducción de fresno americano se realiza por semillas y, como se trata de una especie diclino dioica, los individuos producidos resultan ser femeninos o masculinos. Sin embargo, el uso de ejemplares masculinos presenta ciertas ventajas, principalmente como no producen frutos, no obstruyen cañerías de desagüe ni generan residuos en la vía pública. Por esto, resulta conveniente la producción de pies masculinos mediante la propagación por estacas. El objetivo de este trabajo es determinar un protocolo para conseguir una producción de manera eficiente y masiva de fresnos de pie masculino, mediante el enraizamiento de estacas. Se evaluaron dos épocas de cosecha (otoño e invierno), con 0, 50, 100, 250 y 500 ppm de AIB, en dos tipos de sustratos: mezcla de tierra-perlita y tierra-turba. Se determinó el porcentaje de estacas con brotes, raíces y callos, número de brotes, raíces y callos por estaca, longitud de brotes y raíces, contenido de proteínas y azúcares solubles. El porcentaje de estacas enraizadas en general fue bajo y estaría asociado a factores no considerados como edad del material utilizado, posición de las ramas, porción de la rama, entre otros. Los mejores resultados se observaron en las estacas recolectadas en invierno, plantadas en mezcla tierra-perlita y con altas concentraciones de AIB. En las estacas que enraizaron se observaron mayores contenidos de azúcares y alta relación de carbohidratos/proteínas.

# INTRODUCCIÓN

---

Mediante una apropiada planificación y manejo, el arbolado urbano puede ofrecer un amplio rango de beneficios, tales como paisajísticos, ambientales, sociales, económicos, y desde hace tiempo, está siendo estudiado como una manera de aumentar la calidad de vida de los ciudadanos. Históricamente, el paisajismo se basó en mejorar la calidad estética del paisaje y la calidad ambiental del entorno humano mediante la incorporación de la vegetación en las ciudades. En la actualidad, el crecimiento demográfico acelerado conlleva al desarrollo de megaciudades y junto a estas aparecen problemas ambientales de gran magnitud. Esto plantea el desafío de un nuevo enfoque sistémico, donde el arbolado urbano forma parte de una infraestructura verde urbana, es decir, un sistema de vegetación urbana integrada a la infraestructura construida, como calles, veredas, techos, para mejorar la calidad ambiental y mitigar los impactos ambientales devenidos del desarrollo urbano (Benassi, 2015). Este concepto de vegetación urbana incluye integralmente a toda la cobertura vegetal que se encuentre dentro de la trama urbana, ya sea entre o sobre ella, en espacio público o privado, desde los sistemas naturales, el arbolado urbano, los cultivos y malezas, los parques y jardines, que sirva para mejorar la calidad de vida de la sociedad, principalmente a partir de la mitigación de los impactos ambientales (Benassi, 2015). Los árboles urbanos ayudan a mitigar muchos de estos impactos: regulan la temperatura y ayudan a conservar la energía; mejoran la calidad del aire; disminuyen la escorrentía de las lluvias y las inundaciones; reducen los niveles de ruido, y suministran el hábitat adecuado para otras especies de flora y fauna (Nowak *et al.*, 1997).

## ❖ Modificación del microclima

Una de las funciones más importantes de los árboles urbanos es la modificación del microclima. El arbolado urbano regula la temperatura del aire y disminuye la amplitud térmica, a través de la intercepción y absorción de la radiación solar, la transpiración y la alteración de la dirección y velocidad de los vientos (Nowak *et al.*, 1997). Esto permite aminorar los efectos del fenómeno conocido como “islas de calor” de las ciudades, un incremento de la temperatura del aire causado por la concentración de edificaciones, pavimento y autos, respecto a zonas no urbanas cercanas (Blendinger *et al.*, 2012). Principalmente la disminución de la temperatura se debe a la intercepción de la radiación solar, los árboles pueden reducir la radiación solar en un 90% o más. Aunque la transpiración de las hojas posee un efecto refrigerante, este es significativamente menor al que produce la sombra del árbol y, además, el aire frío

puede ser rápidamente dispersado por el viento. El efecto refrigerante de la transpiración y la sombra del árbol ayudan a enfriar el ambiente local, evitando el calentamiento de algunas superficies artificiales que están debajo de la cubierta arbórea logrando reducir la temperatura del aire hasta 5 °C. A su vez, en épocas invernales los árboles sirven para mantener el calor en las casas, disminuyendo la velocidad de los vientos. Numerosos árboles en el lote de una casa, en conjunto con los árboles del vecindario, reducen la velocidad del viento significativamente (Nowak *et al.*, 1997).

#### ❖ Contaminación del aire

Otra importante función de los árboles urbanos es el impacto global sobre la contaminación del aire. Por un lado, los árboles ayudan a reducir el uso de energía para calefaccionar y enfriar las casas, al regular la temperatura del aire del ambiente local. El uso de energía en una casa con árboles puede ser 20 o 25% más bajo que en una casa similar en espacios abiertos. Esto a su vez produce una disminución de las emisiones de contaminantes atmosféricos y de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) de las plantas eléctricas, que consumen combustibles fósiles (Nowak *et al.*, 1997). Por otro lado, en el proceso de fotosíntesis los árboles absorben dióxido de carbono, fijan el carbono en su biomasa y liberan oxígeno (O<sub>2</sub>). Se estima que un árbol bien desarrollado libera 1,5 kg de oxígeno por día, cantidad que permite abastecer el consumo diario de 5 personas (Lell, 2006).

Además de la capacidad de fijación de CO<sub>2</sub>, el follaje de los árboles permite la remoción de ciertos contaminantes atmosféricos al absorberlos y utilizarlos en sus procesos metabólicos, especialmente los óxidos de nitrógeno y de azufre, provenientes principalmente de los vehículos (Nowak *et al.*, 1997). También el follaje cumple un rol importante en la retención temporal de una proporción significativa de partículas en suspensión. Está demostrado que se puede alcanzar hasta un 75% de reducción en las micropartículas contaminantes y retenciones de hasta 1 tonelada por árbol (Lell, 2006). Algunas partículas pueden ser absorbidas por el árbol, aunque la mayoría de las partículas interceptadas son retenidas en la superficie de la planta.

#### ❖ Hidrología urbana

Los árboles urbanos cumplen un rol importante en la hidrología urbana, estos interceptan y retienen en sus copas una significativa cantidad de agua de las precipitaciones, disminuyendo la velocidad y el volumen de la escorrentía, previniendo inundaciones al retardar el pico de crecida en lluvias torrenciales. Esta interceptación es total, con lluvias poco intensas y breves, y se reduce progresivamente a medida que

aumenta la intensidad y duración. La intercepción e infiltración de agua también reducen la erosión causada por el impacto directo de las precipitaciones sobre el suelo (Blendinger *et al.*, 2012).

❖ Reducción de ruido

Se comprobó la efectividad de los árboles como disipadores del nivel sonoro. Cuando las ondas sonoras traspasan la masa arbórea pierden intensidad, dependiendo del tipo, disposición y densidad del follaje. Cuanto mayor es el volumen de la masa arbórea mayor es la efectividad. Se puede decir de modo indicativo que por efecto del arbolado en las veredas, el ruido disminuye entre 5 y 15 dB (Lell, 2006).

❖ Beneficios ecológicos

Como se mencionó, la vegetación urbana modifica las condiciones climáticas locales y esto contribuye al enriquecimiento de la biodiversidad, al otorgar a distintas especies un hábitat donde desarrollarse, desde aves, insectos, hongos, líquenes, microorganismos, fauna silvestre, entre otros (Lell, 2006).

Junto a los beneficios ambientales aportados, el arbolado urbano tiene efectos significativos en el ámbito socioeconómico de una ciudad. Aunque estos beneficios frecuentemente son más difíciles de medir y cuantificar, son de igual importancia.

❖ Beneficios socioeconómicos

Respecto a los aspectos económicos, no sólo influye a nivel de propiedad residencial sino también a nivel local. El valor de venta de una propiedad aumenta si presenta árboles en ella o si se encuentra cercana a espacios verdes.

❖ Salud mental y física

La presencia de árboles y bosques urbanos, tienen una gran influencia en la salud de los ciudadanos al proporcionar ambientes más deseables para vivir, trabajar y utilizar el tiempo libre, ayudan a disminuir el estrés y mejorar el estado de ánimo. Está comprobado que los paisajes con árboles y vegetación, producen estados más distendidos en las personas que los paisajes que carecen de estas características naturales. Además, los espacios verdes como parques, plazas o bosques urbanos, ayudan a promover las actividades físicas y de recreación al aire libre. Los árboles contribuyen de manera muy importante en la calidad estética de las ciudades y barrios residenciales, con el color del follaje y su cambio estacional, el brillo, las diversas formas, la floración, entre otros. Todos estos factores ayudan a incrementar el

bienestar de la vida diaria de los ciudadanos, otorgando un ambiente más confortable y saludable para vivir, mejorando su salud física y psicológica (Nowak *et al.*, 1997).

Sin embargo, en el arbolado urbano suelen presentarse ciertos inconvenientes, como son caída de ramas y fustes, la intercepción de líneas de cableado aéreo y luminaria, obstrucción de cloacas y desagües por la caída de hojas y frutos, daño al pavimento, veredas y conductos, interferencia en el tránsito, exceso de sombreado, alergias. Estos problemas se pueden prevenir o aminorar, con la realización de una apropiada planificación, diseño y manejo del arbolado urbano. Los programas de plantación y manejo de árboles deberían considerar y enfocarse en las necesidades del lugar y los beneficios que la vegetación urbana puede satisfacer. Estos deben tener en cuenta el objetivo de la plantación, los cuidados y mantenimientos de los árboles y la viabilidad económica del proyecto. Durante el diseño se debe considerar la ubicación de los árboles a plantar y de las estructuras existentes, las condiciones edafoclimáticas, las edificaciones y a partir de estos factores, elegir la especie más adecuada (Tonello *et al.*, 2003).

La elección de las especies es una etapa crítica en el diseño del arbolado urbano y, si se realiza correctamente, se asegura la supervivencia de los árboles, se evitan potenciales problemas y se minimizan los costos de mantenimiento o reemplazo de ejemplares. Durante esta etapa es fundamental considerar que el entorno urbano es fuertemente alterado respecto a los ambientes naturales y presenta condiciones adversas para el crecimiento de la vegetación (Nowak *et al.*, 1997). Las especies elegidas deben cumplir con ciertos requisitos como tener un desarrollo final adecuado al espacio disponible, ser especies de gran adaptabilidad y resistentes a la polución ambiental, ser resistentes a patógenos y enfermedades, no ser exigentes respecto a la calidad de suelo, no ser sensibles al vuelco y quiebre de sus ramas, tener buena respuesta a la poda, tener sistemas radiculares poco agresivos y no tener frutos peligrosos (Núñez, 2000). Algunas de las especies empleadas en el arbolado urbano que se pueden mencionar son el fresno americano (*Fraxinus pennsylvanica* Marsh.), el plátano (*Platanus x acerifolia* Willd.), el paraíso (*Melia azadarach* L.), el tilo (*Tilia moltkei* L.), el ligustro (*Ligustrum lucidum* W.T.Aiton), el acer (*Acer platanoides* L.), el roble europeo (*Quercus robur* L.), la acacia blanca (*Robinia pseudoacacia* L.), el sauce (*Salix* spp. L.), el álamo (*Populus* spp. L.) como especies exóticas, y el jacarandá (*Jacaranda mimosifolia* D. Don), el lapacho rosado (*Handroanthus impetiginosus* Standl.), pezuña de vaca (*Bahuinia forficata* Link), la tipa blanca (*Tipuana tipu* Kuntze) como especies nativas de Argentina (Lell, 2006).

Particularmente el fresno americano (*Fraxinus pennsylvanica* Marshall) es una de las especies más reconocidas y abundantes en el arbolado urbano precisamente porque presenta las particularidades que lo hacen una especie apta para este uso. *F. pennsylvanica* es una especie perteneciente a la familia Oleaceae, originaria del Centro y Este de los Estados Unidos y el Sur del Canadá. Es una especie diclinodioica, de segunda magnitud, con una altura que puede alcanzar hasta 15 m y de hábito caducifolio. Su copa es de silueta circular, textura media y su follaje verde claro a intermedio, tornándose amarillo en época otoñal (Benassi *et al.*, 2006). Las hojas son opuestas imparipinnadas y las semillas se encuentran contenidas en una sámara (Figura 1) (USDA-NRCS, 2013). Se trata de una especie de rápido crecimiento y gran adaptabilidad, que crece en variadas condiciones climáticas y edáficas, aunque prefiere suelos fértiles, frescos y algo húmedos. Es muy resistente al frío y a las heladas y requiere cuidados mínimos.



**Figura 1:** A la izquierda: árbol de fresno americano (*Fraxinus pennsylvanica*) ubicado en arbolado urbano. A la derecha: en margen superior árbol de fresno americano con follaje de color amarillo en otoño; en medio fruto sámara y en margen inferior hojas opuestas imparipinnadas.

Su uso principal es paisajístico, está muy difundido en las alineaciones de las ciudades y en espacios públicos. A su vez, su madera resulta apta para una amplia gama de usos tales como elementos deportivos, mangos de herramientas, muebles, escaleras, molduras, puertas, solados interiores y exteriores y elementos estructurales como vigas y columnas, entre otros (Spavento *et al.*, 2009). Aunque si bien su madera presenta buenas características tecnológicas, en Argentina las plantaciones de fresno americano representan una proporción muy baja del total de la superficie plantada. Su uso, en nuestro país, se encuentra muy difundido en las calles y espacios públicos de diversas ciudades, incluyendo la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, La Plata y Rosario, entre otras. En el último censo fitosanitario realizado en CABA en el 2011, el



fresno americano fue la especie más abundante y representó el 39,3 % del Arbolado Público Lineal (CABA, 2016). Además, es una especie dominante en el ámbito urbano de la mayoría de los municipios de la provincia de Buenos Aires, los cuales reciben plantas de la Estación Forestal ubicada en el Parque Pereyra Iraola (Figura 2). Este Parque cuenta con 10.000 Ha ubicado en el Sur del Conurbano Bonaerense y en 2008, fue declarado por la UNESCO como “Reserva de Biósfera”.

La Estación Forestal pertenece al Ministerio de Agroindustrias de la Provincia de Buenos Aires y se encuentra bajo la coordinación del Departamento de Servicios Forestales Comunitario. Asimismo, en ella se ubica el Vivero Provincial “Carlos Darwin”, con una función muy importante en el sector forestal de la provincia de Buenos Aires. El objetivo que persigue es, por un lado, la entrega de plantas forestales a pequeños productores, en el marco de la Ley Provincial de Incentivo a la Forestación N° 12.662/01, y por otro, se provee material para el arbolado urbano y periurbano de los establecimientos públicos de la provincia que lo soliciten (Villaverde & Avogadro, 2014). Dentro de esta última área se producen mayoritariamente plantas de fresno americano (*Fraxinus pennsylvanica*), catalpa (*Catalpa* sp. Scopoli), acacia de constantinopla (*Albizia julibrissin* Baker), sicomoro (*Acer pseudoplatanus* L.), y en menor proporción tilo (*Tillia* sp. L.). El Vivero Darwin es uno de los principales viveros de producción de plantas para arbolado urbano de la provincia y abastece entre 30 y 50 municipios por año, con un promedio de 150 plantas por municipio (Bonnin, 2017).



Figura 2: Ubicación de la Estación Forestal Parque Pereyra Iraola. Fuente: Google Maps, septiembre 2017.

Actualmente la reproducción de fresno americano se realiza por semillas y se provee a raíz desnuda a los municipios. Como se trata de una especie diclino dioica, los individuos producidos resultan ser femeninos o masculinos. No obstante, el uso de

ejemplares femeninos en el arbolado urbano presenta ciertas dificultades, dado que producen frutos en grandes cantidades y causan la obstrucción de cañerías de desagüe, canaletas, y a su vez, generan residuos en la vía pública. Al mismo tiempo, el ejemplar masculino presenta ciertas características tipológicas que lo hacen más interesante, como una copa más compacta, mayor uniformidad en el amarillo otoñal y mayor densidad de follaje. Por esto, resulta conveniente el uso de ejemplares masculinos y la determinación de un protocolo para conseguir una producción de manera eficiente y masiva, mediante el enraizamiento de estacas. Si bien la propagación vegetativa mediante el enraizamiento de estacas es una de las formas más comunes para la producción de plantines forestales y de uso paisajístico, no existe abundante información acerca de la propagación del fresno americano (Roussy & Abedini, 2012).

La reproducción asexual consiste en producir una nueva planta a partir de partes vegetativas de una planta madre. Esto es posible gracias a una propiedad denominada totipotencia que presentan las células vegetales, esta consiste en que cada célula contiene la información genética y la capacidad necesaria para regenerar todas las partes de una planta y sus funciones. Y a su vez, las células madres poseen la capacidad de desdiferenciarse y volver a su condición meristemática y crear así un nuevo punto de crecimiento (Hartmann & Kester, 1998). El crecimiento y regeneración ocurren por el proceso de división de células llamado mitosis, con el cual las células hijas contienen los mismos genes que la célula madre. En el crecimiento, la mitosis ocurre en áreas de la planta específicas como el ápice del tallo, el ápice de la raíz, el cambium y zonas intercalares. La reproducción asexual puede ocurrir por formación de raíces y tallos adventicios o por injerto mediante la unión de partes vegetativas. Esta presenta ciertas ventajas frente a la reproducción sexual. Por un lado, las plantas hijas son genéticamente idénticas a la planta madre, y esto es de especial importancia cuando se quieren mantener ciertas características deseadas. Además es posible realizar combinaciones de dos clones en una misma planta mediante el injerto, de esta manera se pueden propagar especies de difícil multiplicación por semillas, se evitan largos períodos juveniles y se tiene un control del crecimiento (Hartmann & Kester, 1998).

La propagación vegetativa por estacas consiste en producir una nueva planta a través de la plantación de estacas en un sustrato adecuado y su crecimiento en condiciones ambientales óptimas, para que regeneren raíces adventicias. Para la formación de una nueva planta, sólo es necesario la formación de un nuevo sistema de raíces adventicias porque la estaca presenta yemas para la formación de hojas. Hay dos

tipos de raíces adventicias: las raíces preformadas y las de lesión, que si bien presentan el mismo origen, difieren en el momento de su formación. Las preformadas se desarrollan durante la formación del tallo y permanecen en reposo hasta que se corta el tallo y se lo coloca en condiciones ambientales favorables, esto ocurre principalmente en los géneros *Salix* y *Populus*. Las de lesión se desarrollan luego de cortar la estaca como una respuesta a esa lesión, y a partir del momento de cosecha de las estacas, se produce un proceso de cicatrización y regeneración que consiste en los siguientes pasos: primero, las células externas que fueron lesionadas mueren y se forma una capa necrótica con material suberoso para sellar el xilema y que no se desque la estaca. Luego, las células que se encuentran detrás de esta capa, comienzan la división y se forma una capa de células parenquimáticas llamada callo. Por último, en las células próximas al cambium vascular y el floema se comienzan a formar las raíces adventicias. La formación de callo no es una condición necesaria para la formación de las raíces, en la mayoría de las especies es independiente, aunque en otras especies como *Pinus radiata* D. Don, *Sedum* spp. L. y *Hedera hélix* L. las raíces aparecen en el tejido del callo (Hartmann & Kester, 1998).

La propagación por estacas permite multiplicar y obtener en un tiempo relativamente corto plantas homogéneas y de buena calidad comercial, de manera sencilla (Hartmann & Kester, 1998). La eficiencia depende de la especie a propagar y es afectada por diversos factores, ya sean previos o posteriores a la cosecha de las estacas (Sisaro & Hagiwara, 2016). Algunos de los factores previos a la cosecha de las estacas son el genotipo o especie vegetal, las condiciones de la planta madre, edad y tipo de estacas, posición de las estacas en la rama o planta, época de recolección, homogeneidad del material a propagar. Algunos factores posteriores a la cosecha son el manipuleo de las estacas y su conservación, las hormonas aplicadas y sus concentraciones, las condiciones ambientales provistas para el enraizamiento, tipo de sustratos, contenedores (Sisaro & Hagiwara, 2016).

La capacidad natural de enraizar es el factor más importante y es una característica hereditaria que varía según la especie y entre individuos de la misma. Las plantas se dividen según esta capacidad en fáciles de enraizar, como por ejemplo los géneros *Salix*, *Populus* y *Tilia*, y difíciles de enraizar, como se puede mencionar el género *Pinus*. Aun así, se pueden encontrar variaciones significativas incluso dentro de una misma especie. Según De Vastey (1962), se encontraron variaciones en la capacidad de enraizar de 0 a 100% en 20 especies de fresnos.

Si bien existen especies que naturalmente tienen poca capacidad de enraizamiento, con la realización de ensayos en condiciones controladas, se puede lograr un aumento del enraizamiento a través de la aplicación exógena de reguladores de crecimiento de tipo auxínico, de modo de conseguir un balance hormonal entre los promotores e inhibidores (De Vastey, 1962). Se comprobó que las auxinas son esenciales para la formación de raíces adventicias, ya que estimulan los primordios de raíces adventicias preformadas que permanecen latentes en estacas de especies leñosas. Estos primordios con frecuencia se encuentran en los nudos o en los extremos inferiores de las ramas que se localizan entre los nudos (Henríquez Madariaga, 2004). Además, mejoran la producción y translocación de sacarosa hacia la base, que actúa como fuente de carbono para la rizogénesis.

La edad del árbol madre es un factor importante en el enraizamiento. Se observa que a medida que esta aumenta, la capacidad de enraizamiento disminuye y se obtienen mejores resultados con brotes juveniles de uno o dos años (Zanoni Mendiburu, 1975). Según Caso (1992), en la mayoría de las especies leñosas, dicha condición de adultez restringe las capacidades morfogénicas del individuo y la capacidad de propagación vegetativa está asociada con el carácter juvenil, por lo que cuanto más joven sea el individuo, más rápido y fácil será su propagación. La disminución de la capacidad de enraizamiento relacionada al estado adulto, se puede deber por el incremento de inhibidores del enraizamiento o por una disminución de cofactores de la auxina en la iniciación de las raíces (Hartmann & Kester, 1998).

El estado nutricional de la planta madre es otro factor determinante en la propagación por estacas (Hartmann & Kester, 1998), en particular la relación de carbono/nitrógeno. Un nivel alto de reservas de carbohidratos y un adecuado contenido de nitrógeno favorecen el enraizamiento (Hartmann & Kester, 1998; Soto Figueroa, 2004; Inzunza Olave, 2007). Los carbohidratos constituyen una fuente de energía muy importante para la iniciación de raíces. Considerando que las sustancias lipídicas normalmente no son abundantes en los tallos, la degradación de carbohidratos es la única fuente de energía en la estacas para activar el proceso rizógeno, señalándose al almidón, cuando está presente, como la principal y posiblemente única fuente de energía para la iniciación y desarrollo del primordio radical (Henríquez Madariaga, 2004). El nitrógeno es utilizado por las estacas en la formación de ácidos nucleicos y proteínas. Un contenido de nitrógeno bajo disminuye el vigor de las estacas y con altos contenidos, se produce un vigor excesivo, condiciones no deseadas para el enraizamiento (Hartmann & Kester, 1998).

La época del año para la cosecha de estacas también tiene importante influencia en la capacidad rizógena, debido a la variación en las reservas de nutrientes y los balances hormonales, especialmente en especies caducas que presentan mayor variación a lo largo del año (Hartmann & Kester, 1998; Soto Figueroa, 2004). En especies caducas, se pueden cosechar estacas de madera dura durante la época de reposo o de madera blanda en la estación de crecimiento (Hartmann & Kester, 1998).

Los reguladores de crecimiento aplicados en las estacas actúan aumentando la tasa inicial de formación de raíces, el porcentaje de enraizamiento, el número y la calidad de las raíces y promoviendo la uniformidad del sistema radical (Mata Quirós, 2006). Los que se utilizan usualmente por su alta efectividad son el ácido indol acético (AIA), ácido indol butírico (AIB) y el ácido naftalen acético (ANA). El AIB es uno de los más utilizados, ya que aunque es químicamente similar al AIA se ha comprobado que es más efectivo y más estable, y resulta no ser tóxico en un amplio rango de concentraciones para un gran número de especies. Además, es una sustancia fotoestable, de acción localizada y poco sensible a la degradación biológica en comparación con otras auxinas sintéticas (Mata Quirós, 2006; Castrillón *et al.*, 2008; Moreno *et al.*, 2009). La concentración óptima de aplicación de los reguladores de crecimiento puede variar según la especie, el tipo de estaca y el método de aplicación. En general, las estacas herbáceas requieren bajas dosis de reguladores de crecimiento, las semileñosas responden menos y requieren dosis medias y para que respondan las estacas leñosas se necesitan altas dosis (Zanoni Mendiburu, 1975). En el método de aplicación de solución lenta las concentraciones usadas son mucho más bajas, varían de 20 ppm para especies de enraizamiento fácil a 200 ppm para aquellas difíciles de hacer enraizar, respecto al método de solución concentrada donde se emplean concentraciones que puede variar entre 500 a 10000 ppm según la dificultad de enraizamiento (Sisaro & Hagiwara, 2016).

Un sustrato de enraizamiento ideal debe presentar suficiente porosidad para proporcionar buena aireación y a su vez, debe tener alta capacidad de retención de humedad (Hartmann & Karter, 1998; Cabrera, 1998). Algunos autores plantean que no encontraron diferencias significativas al probar distintos sustratos, como Castrillón *et al.* (2008) en estacas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) y López Acosta *et al.* (2007) en estacas de uchuva (*Physalis peruviana* L.). Sin embargo, otros autores plantean que el tipo de sustrato utilizado puede influir no sólo en el porcentaje de enraizamiento, sino también en la calidad de las raíces adventicias. Moreno *et al.* (2009) encontraron diferencias significativas entre diferentes sustratos en estacas de uchuva, siendo la turba el sustrato de propagación más adecuado. En un estudio de

propagación por estacas juveniles de marupa (*Simarouba amara* Aubl.) se concluyó que el tipo de sustrato fue uno de los factores evaluados más determinantes en la respuesta obtenida (Soudre *et al*, 2010).

## HIPÓTESIS

---

El uso de reguladores de crecimiento de tipo auxínico combinado con un sustrato adecuado optimiza el enraizamiento de estacas juveniles de *Fraxinus pennsylvanica* para la obtención de individuos masculinos selectos.

## OBJETIVOS

---

### Objetivo General

El objetivo de este trabajo es desarrollar un protocolo de propagación vegetativa mediante enraizamiento de estacas de ejemplares masculinos de *Fraxinus pennsylvanica*, por medio del enraizamiento de estacas juveniles.

### Objetivos Particulares

- ❖ Determinar la época del año óptima de recolección del material vegetal.
- ❖ Determinar el tipo de sustrato adecuado para la formación y el crecimiento de las raíces adventicias.
- ❖ Evaluar el efecto de distintas concentraciones de reguladores de crecimiento de tipo auxínico (AIB) en la promoción de raíces adventicias.
- ❖ Evaluar el contenido de proteínas totales y de carbohidratos simples (azúcares reductores y azúcares totales) en la base de las estacas, como un indicador de la relación carbohidratos/proteínas, fundamental para el crecimiento del sistema radicular.

## MATERIALES Y MÉTODOS

---

Los ensayos se realizaron en invernáculo, bajo condiciones controladas, en el Instituto de Fisiología Vegetal (INFIVE), ubicado en la Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales (UNLP). Las estacas se extrajeron de un rodal de *Fraxinus pennsylvanica* ubicado en el Vivero Provincial “Carlos Darwin” de la Estación Forestal Parque Pereyra Iraola de la Provincia de Buenos Aires (Figura 3). Se cosecharon estacas en dos

momentos del año: a fines de otoño (mayo) y a fines de invierno (agosto), de pies masculinos previamente seleccionados y marcados. Los árboles seleccionados presentaron fuste recto, copa frondosa y buen estado sanitario (Figura 4).



**Figura 3:** Ubicación del rodal de fresno americano en la Estación Forestal del Parque Pareyra Iraola.  
Fuente: Google Maps, septiembre 2017.



**Figura 4:** Individuos masculinos de fresno americano seleccionados para cosecha de estacas en mayo.

Se utilizaron guías juveniles de no más de tres años y se cortaron estacas de aproximadamente 30 cm de largo, con al menos dos yemas cada una. Luego del corte, las estacas se dejaron en un recipiente con agua corriente hasta el día siguiente para eliminar los inhibidores de enraizamiento y evitar la deshidratación. Posteriormente, se realizaron los tratamientos hormonales con ácido indol butírico (AIB) en las siguientes concentraciones: 50 – 100 – 250 – 500 ppm, mediante el método lento en solución durante 48 horas (Figura 5). El testigo se sumergió en agua.



**Figura 5:** Estacas de fresno americano pie masculino sumergidas en su parte basal con ácido indol butírico (AIB).

Luego cada tratamiento hormonal se colocó en bandejas de plástico con orificios de drenaje en los extremos inferiores, previamente desinfectadas, con mezcla de perlita y tierra (1:1) y con mezcla de turba y tierra (1:1), (Tabla 1) y se regaron periódicamente para mantener la humedad óptima (Figura 6).



**Figura 6:** Estacas de fresno americano pie masculino plantadas en bandejas de plástico con distintos sustratos: tierra - perlita y tierra - turba.

En el siguiente cuadro se muestran los tratamientos resultantes:



**Tabla 1:** *Tratamientos realizados en estacas de fresno americano pie masculino.*

Época de cosecha	Sustrato	Concentración de AIB (ppm)	Tratamiento
Fines de otoño (mayo)	Tierra-perlita	0	OP0
		50	OP50
		100	OP100
		250	OP250
		500	OP500
	Tierra-turba	0	OT0
		50	OT50
		100	OT100
		250	OT250
		500	OT500
Fines de invierno (agosto)	Tierra-perlita	0	IP0
		50	IP50
		100	IP100
		250	IP250
		500	IP500
	Tierra-turba	0	IT0
		50	IT50
		100	IT100
		250	IT250
		500	IT500

Luego de 90 y 150 días posteriores a la plantación de las estacas se realizaron las siguientes determinaciones:

- ❖ % de estacas con brotes
- ❖ Número de brotes por estaca
- ❖ Longitud de brotes
- ❖ % de estacas con raíz
- ❖ Número de raíces por estaca
- ❖ Longitud de raíces
- ❖ % de estacas con callo
- ❖ Número de callos por estaca
- ❖ Contenido de proteínas solubles
- ❖ Contenido de azúcares totales y reductores

Determinación de proteínas solubles: se tomaron muestras de la parte basal de las estacas de todos los tratamientos y se guardaron en freezer a -80 °C hasta su procesamiento. La determinación del contenido de proteínas solubles se realizó de acuerdo a Bradford (1976) a partir de 100 mg de la parte basal de las estacas, previamente molidas según se explica a continuación. Los tejidos se homogeneizaron en un mortero con 1 ml del buffer de extracción (TRIS 50 mM, EDTA 1mM, PVPP insoluble 1%, MeSH 0,1% a pH 7,5) a 4°C. El homogeneizado resultante se centrifugó a 10.000 g durante 10 minutos a 4°C. Se tomaron 100 µl del sobrenadante y se le agregó 5 ml del reactivo Azul Brillante de Coomassie, se agitó en vortex y se leyó la absorbancia a 595 nm. El cálculo de la concentración de proteínas se efectuó empleando una curva patrón preparada con distintas concentraciones de albúmina de suero bovino (BSA, Sigma Chemical Co).

Determinación de azúcares totales y reductores: se tomaron muestras de la parte basal de las estacas de todos los tratamientos y se guardaron en freezer a -80 °C hasta su procesamiento. La determinación del contenido azúcares totales y reductores se realizó de acuerdo a Cronin & Smith (1979). Primero se preparó el extracto a partir de muestras de 0,5 g de la parte basal de las estacas previamente molidas. Estas se mortearon con 10 ml de alcohol 85° y se calentaron a baño maría (100°C) durante 5 minutos. El sobrenadante se traspasó a otro tubo y al material que quedó, se le volvió a agregar alcohol 85° y a calentar en baño María. Se repitieron estos pasos dos veces más y se filtró con embudo y papel el sobrenadante resultante. Así es como se obtuvo el extracto, el cual se diluyó hasta completar 20 ml y se tomaron 5 ml para determinar azúcares totales y otros 5 ml para azúcares reductores. A cada una de estas diluciones se les agregó 2 ml de agua bidestilada y se las calentó a baño María (100°C) durante 5 minutos para extraerles el alcohol. Luego, a las muestras para determinar azúcares totales se les agregó 1 ml de HCl (ácido clorhídrico) 0,1 M y se calentaron en baño María por 5 minutos, con el objetivo de que se produzca una hidrólisis ácida y así transformar los disacáridos en monosacáridos. Este paso sólo se realizó para determinar azúcares totales. Seguidamente, a cada muestra se les agregó 2 ml de reactivo cúprico (figura 7) y se llevaron a baño caliente 10 minutos. Se dejaron enfriar y se les agregó 1 ml del segundo reactivo. Se enrasaron a 25 ml con agua bidestilada y se agitaron. A partir de estas, se tomó 1 ml de cada repetición y se midió la absorbancia en espectrofotómetro a 520 nm.

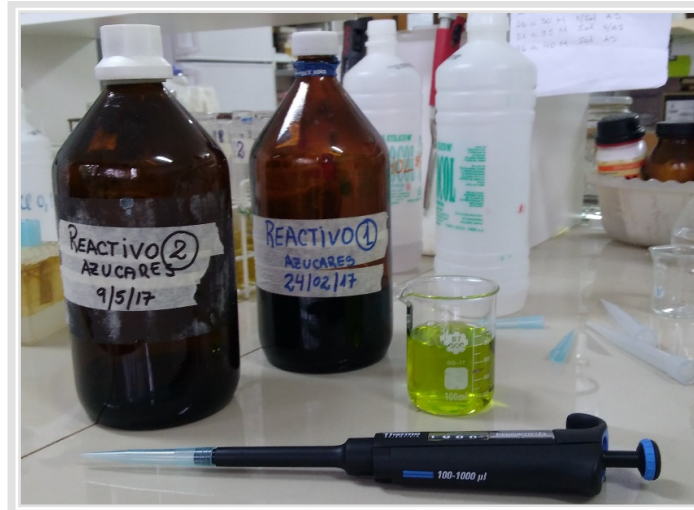


Figura 7: Reactivos 1 y 2 utilizados en la determinación de azúcares solubles totales y reductores.

### **Análisis estadístico**

Se realizó un experimento simple, con un diseño completamente aleatorizado, con 20 tratamientos (2 momentos de muestreo x 2 sustratos x 5 concentraciones de AIB), con tres repeticiones y 15 estacas por repetición. Los datos obtenidos en la experiencia se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA) y las medias se compararon utilizando el test LSD ( $p < 0,05$ ).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Análisis de porcentaje de estacas brotadas, número de brotes por estaca y crecimiento en longitud de brotes**

En las tablas 2 y 3 se observa que, en cada tratamiento, las estacas cosechadas a fines de invierno presentaron un aumento en el porcentaje de brotación respecto a las de fines de otoño, excepto el tratamiento P250 que obtuvo el máximo porcentaje (40%) y lo mantuvo en ambas épocas de recolección del material. Este aumento en invierno también se da en la cantidad de brotes por estaca y la longitud de los mismos. Es probable que esto se deba al elevado contenido de ácido abscísico (ABA) en las estacas cosechadas en otoño. El ABA es una hormona inhibidora del crecimiento, cuyo balance en conjunto a hormonas promotoras del crecimiento como son las citocininas y giberilinas, produce la dormición de yemas y semillas (Carbone *et al.*, 2014). Además, las estacas cosechadas en invierno fueron las que obtuvieron mejores resultados en la formación de raíces adventicias, por lo que se generaron las condiciones adecuadas para el crecimiento de los brotes. Estos resultados no coinciden en lo encontrado en un estudio de propagación por estacas de ficus (*Ficus*

*benjamina* L.) recolectadas en tres épocas del año diferentes (primavera, verano y otoño) donde se observó el mayor número de hojas en otoño (Soto *et al*, 2006).

El efecto del AIB en la brotación varió según la época de cosecha y el sustrato. En los tratamientos OP (Tabla 2) se observaron diferencias significativas en el porcentaje de brotación, el número de brotes por estaca y la longitud de brotes. El tratamiento que obtuvo mejores resultados en brotación fue OP250, que fue el único tratamiento de otoño que enraizó y como se explicó anteriormente, la formación de raíces favorece el desarrollo de los brotes. Este presentó un 40% de estacas brotadas con 1,6 brotes por estaca y 1,67 cm de longitud. Continúa el tratamiento OP100 con 26,7%, 1,1 brotes por estaca y 1,35 cm de largo. OP0, OP50 y OP500 fueron los más bajos.

En los tratamientos IP (Tabla 3) se observaron diferencias significativas en el porcentaje de estacas brotadas y la longitud de brotes, pero no en la cantidad de brotes por estaca. Los mayores porcentajes de estacas brotadas se obtuvieron en los tratamientos IP0, IP50 e IP250. Cabe destacar que el mayor porcentaje fue en IP250, con 40% de estacas brotadas, que también fue el que presentó los mayores valores en enraizamiento. El tratamiento IP500, si bien obtuvo porcentaje de estacas enraizadas, obtuvo el porcentaje de estacas brotadas más bajo (26,7%). Como se puede ver en la Tabla 3, en cuanto al número de brotes por estaca y la longitud de estos, al igual que el porcentaje de estacas brotadas, se observaron mayores valores promedios en las estacas cosechadas en invierno con sustrato tierra-perlita. En la cantidad de brotes por estacas, si bien no hay diferencias significativas, los mayores valores medios son de IP100 e IP250 con 2,6 brotes por estaca. En la longitud de brotes se observa un aumento a medida que aumenta la concentración a AIB, alcanzando valores de hasta 3 cm en el tratamiento IP100.

En los tratamientos OT (Tabla 2) no se observaron diferencias significativas entre estos en el porcentaje de estacas brotadas y la longitud de brotes, sólo en la cantidad de brotes por estaca. Los porcentajes fueron muy bajos e incluso los tratamientos IP100 e IP500 no presentaron brotes. El tratamiento con mayor porcentaje fue el testigo OT0 con 6,7% y le siguen los tratamientos OT50 y OT250, con 3,3% de estacas brotadas, 1 brote/estaca y 0,8 y 0,9 cm de largo.

Por último, en los tratamientos IT (tabla 3) se observaron diferencias significativas en el porcentaje de estacas brotadas y la longitud de brotes, pero no en la cantidad de brotes por estaca. Los tratamientos IT50, IT100 e IT500 tuvieron un 30% estacas brotadas, y el que tuvo más brotes fue IT250 con 3 brotes/estaca y 2,31 cm de largo.

El tratamiento testigo IT0 junto a IT250 fueron los de menor porcentaje, con un 20% de brotación.

Al analizar la brotación en los distintos sustratos, se observó que las estacas plantadas en la mezcla de tierra-perlita presentaron mayor porcentaje de estacas brotadas en ambas épocas de cosecha. Esto también se explica porque en la mezcla tierra-perlita se obtuvieron los mejores resultados de enraizamiento, al formarse un nuevo sistema radical la estaca tiene la capacidad de absorber agua y nutrientes del sustrato que permite el posterior desarrollo de los brotes. En la cantidad de brotes por estaca y longitud no se observaron diferencias en las mezclas de sustratos. Los porcentajes más elevados de estacas brotadas corresponden a los tratamientos OP250 e IP250, con un 40% de estacas brotadas y los más bajos fueron los tratamientos OT100 y OT500 que no presentaron estacas brotadas.

#### **Análisis de porcentaje de estacas enraizadas, número de raíces por estaca y crecimiento en longitud de raíces**

Al evaluar la formación de raíces adventicias, se verificó que la mayor parte de los tratamientos no presentaron estacas enraizadas (Tabla 2 y 3). Los tratamientos donde se observaron estacas enraizadas fueron con mezcla tierra-perlita y fueron OP250, IP250 e IP500. IP250 presentó valores significativamente mayores de enraizamiento, con un 10% de estacas enraizadas, 2,3 raíces por estaca y 11,45 cm de largo. OP250 obtuvo 3,3%, con 1 raíz por estaca y 6,6 cm e IP500 3,3%, 1 raíz por estaca y 2,2 cm de largo. En la Figura 8 se puede observar que las raíces más largas se observan con 250 ppm de AIB.

Este bajo porcentaje de estacas enraizadas en general, estaría asociado a otros factores no considerados en este estudio, por lo que será necesario evaluar en estudios posteriores, factores tales como edad del material utilizado, posición de ramas en la planta madre, porción de la rama, entre otros. Estos bajos porcentajes de enraizamiento se pueden deber principalmente a la edad de la planta madre y el estado ontogénico de las estacas, ya que en la planta pueden mostrarse simultáneamente en diferentes partes de la misma, la fase juvenil, de transición y adulta. Según Hartmann & Kester (1998) en plantas difíciles de enraizar, como es el caso del fresno (Loewe *et al*, 1997), la edad de la planta madre puede ser un factor dominante en la formación de las mismas. Las estacas tomadas en la fase juvenil del crecimiento presentan mayor capacidad rizógena, que aquellas tomadas de plantas que están en la fase adulta de su desarrollo (Hartmann & Kester, 1998). Según Caso (1992), en la mayoría de las especies leñosas, dicha condición de adultez restringe las capacidades morfogénicas del individuo y la capacidad de propagación vegetativa

está asociada con el carácter juvenil, por lo que cuanto más joven sea el individuo, más rápido y fácil será su propagación. La pérdida o disminución de la capacidad de enraizamiento relacionada al estado adulto, se puede explicar por el incremento en la formación de inhibidores del enraizamiento o bien, por una disminución del contenido de compuestos fenólicos, que actúan como cofactores de la auxina en la iniciación de las raíces (Hartmann & Kester, 1998). En *Fraxinus excelsior*, la sustancia que inhibe el enraizamiento es la scopoletina y la ausencia de ácido p-cumárico que es un fuerte inhibidor de la elongación celular que promueve la formación de raíces adventicias, presente en especies que enraízan fácilmente como el aliso (*Alnus glutinosa* Gaertn.), entre otras (Loewe *et al*, 1997).

Por lo tanto, si bien es posible lograr la propagación vegetativa de individuos adultos de especies leñosas, debe tenerse en cuenta que para tener éxito deberá contarse con material juvenil o rejuvenecido (Caso, 1992). Para ello, se pueden realizar una poda severa para promover la generación de brotes vigorosos (Hartmann & Kester, 1998). A su vez, la juvenilización por recepado ha sido utilizado en especies leñosas (Abedini, 2005). En un estudio realizado por Roussy & Abedini (2012) se demostró la posibilidad de la propagación vegetativa de *Fraxinus pennsylvanica* a partir de estaquillas que procedan de material juvenil obtenido de un recepado invernal con la aplicación de diferentes concentraciones de ácido naftalén acético (ANA). En otro estudio realizado por Salvarrey Mendoza (2008) acerca de la propagación por estaquillado del guayabo del país (*Acca sellowiana* Burret.) se observó que la edad de la planta madre podría haber sido un factor dominante en el enraizamiento. Se realizaron dos experimentos, uno con material cosechado de una planta adulta podada previamente y otro de plantas de dos años de edad y se obtuvieron mejores resultados de enraizamiento en las estacas de la planta joven.

Al comparar los resultados obtenidos de brotación y enraizamiento de las dos épocas de cosecha de estacas, se observan mayores valores en las estacas cosechadas a fines de invierno, tanto en porcentaje de estacas enraizadas en los tratamientos que lograron enraizar y en porcentaje de estacas brotadas, número de brotes por estaca y longitud. Estas diferencias se podrían deber a un mayor contenido de auxinas y menor de ácido abscísico de las estacas cosechadas en invierno, es decir, un balance favorable a las hormonas que estimulan el crecimiento. En un trabajo mencionado anteriormente acerca de propagación por estacas de ficus cosechadas en tres épocas del año diferentes, se concluyó que la época del año influyó significativamente sobre el enraizamiento y desarrollo de las raíces observando mejores resultados en la época de primavera (Soto *et al*, 2006).

La aplicación de reguladores de crecimiento en forma exógena es fundamental en especies difíciles de enraizar. Si bien en este ensayo otros factores parecieron tener fuerte influencia, como la edad de la planta madre, se observó que los testigos no enraizaron y sí enraizaron aquellos con mayores concentraciones de AIB. En el trabajo mencionado de Roussy & Abedini (2012) en propagación de fresno americano con material juvenil, se logró el enraizamiento de las estacas con la aplicación de ANA en concentraciones de 20 a 100 ppm. En el estudio mencionado anteriormente de propagación por estacas de ficus, la aplicación de AIB en dosis moderadas (1500 - 3000 ppm) estimuló la capacidad de enraizamiento. Con 1500 ppm de AIB se observaron los mayores valores promedios, particularmente en el porcentaje de enraizamiento y volumen de raíces formadas y también en el crecimiento en altura de las plantas que fueron trasplantadas. En cambio, con dosis elevadas de AIB (10000 ppm) se observó una reducción en el enraizamiento, con respecto a los valores de los tratamientos con dosis moderadas (Soto *et al*, 2006). En otro estudio de propagación por estacas de morera (*Morus alba* L.), al analizar el efecto de la aplicación de AIB sobre el enraizamiento se verificó que las distintas concentraciones estimularon la formación de raíces adventicias y, sin embargo, no se observaron diferencias entre distintas dosis. Se comprobó que sin los tratamientos hormonales de tipo auxínicos la probabilidad de inducir raíces en estacas de morera sería muy baja (Henríquez Madariaga, 2004).

Respecto el efecto del sustrato en el enraizamiento de estacas, los mejores resultados de brotación y enraizamiento se obtuvieron en los tratamientos con mezcla de tierra-perlita, respecto a la mezcla de tierra-turba. A partir de esto se puede decir que la mezcla tierra-perlita otorga mejores condiciones para la formación de raíces. Por un lado, la tierra otorga una buena capacidad de retención de agua y nutrientes y por otro, la perlita alta porosidad y buena aireación, no es así el caso de la turba que no presenta las mismas condiciones de aireación (Alvarado & Solano, 2002).

#### **Análisis de porcentaje de estacas con callo y número de callos por estaca**

Al analizar la formación de callo, no se observó relación con las estacas que enraizaron, pues estos tratamientos obtuvieron similares o incluso menores porcentajes de estacas con callo con respecto a los tratamientos que enraizaron (Tabla 2 y 3). Esto coincide con lo expresado por Hartmann & Kester (1998), según estos autores, en la mayoría de las plantas, la formación de callos no es condición necesaria para la regeneración de raíces adventicias. Estos resultados se encontraron también en estacas de hualo (*Nothofagus glauca* Krasser) (Santelices & Cabello,

2006), de luma (*Amomyrtus luma* D. Legrand & Kausel), meli (*Amomyrtus meli* D. Legrand & Kausel) y arrayán (*Luma apiculata* Burret) (Soto Figueroa, 2004).

Al analizar el efecto del AIB en la formación de callo se observó que en condiciones naturales el porcentaje de estacas con callo fue menor, y que al ser sometidas a diferentes concentraciones de AIB presentaron efectos positivos. Se podría deducir que el AIB, en estacas de fresno americano, tendría un efecto promotor en la formación de callo. La formación de callo está regulado por el balance hormonal endógeno de auxinas y citocininas. Una relación alta de auxinas/citocininas favorece la formación de raíces, una baja relación la formación de yemas y una relación intermedia la formación de callo (Ruscitti *et al.*, 2014). Estos resultados difieren a lo encontrado en estacas de morera (*Morus alba* L.) por Henríquez Madariaga (2004), en donde se observó un efecto inhibitor del AIB en la formación de callo. Otros estudios muestran que el AIB no influyó significativamente sobre la formación de callos, como en estacas de pino patula (*Pinus patula* Schiede) (Rivera Rodriguez *et al.*, 2016) y de hualo (Santelices & Cabello, 2006).

**Tabla 2:** Análisis del número y crecimiento en longitud de raíces y brotes por estaca y número de callos por estaca de estacas cosechadas en otoño.

Tratamiento	% estacas brotadas	Brotes/ estaca	Longitud brotes (cm)	% estacas enraizadas	Raíces/ estaca	Longitud raíces (cm)	% estacas con callos	Callos/ estaca
<b>OPO</b>	3,3 a	1,0 ab	0,30 a	0,0 a	0,0 a	0,00 a	20,0 b	1,2 a
<b>OP50</b>	3,3 a	1,0 ab	0,20 a	0,0 a	0,0 a	0,00 a	23,3 bc	1,0 a
<b>OP100</b>	26,7 b	1,1 ab	1,35 ab	0,0 a	0,0 a	0,00 a	66,7 d	1,4 a
<b>OP250</b>	40,0 c	1,6 b	1,67 b	3,3 b	1,0 b	6,60 b	40,0 c	1,5 a
<b>OP500</b>	6,7 a	1,0 ab	0,15 a	0,0 a	0,0 a	0,00 a	0,0 a	2,5 b
<b>OTO</b>	6,7 a	1,0 ab	0,10 a	0,0 a	0,0 a	0,00 a	10,0 a	1,3 a
<b>OT50</b>	3,3 a	1,0 ab	0,80 a	0,0 a	0,0 a	0,00 a	26,7 bc	1,9 a
<b>OT100</b>	0,0 a	0,0 a	0,00 a	0,0 a	0,0 a	0,00 a	40,0 c	1,2 a
<b>OT250</b>	3,3 a	1,0 ab	0,90 a	0,0 a	0,0 a	0,00 a	26,7 bc	1,0 a
<b>OT500</b>	0,0 a	0,0 a	0,00 a	0,0 a	0,0 a	0,00 a	16,7 b	3,2 b

Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas en la columna según LSD ( $p < 0.05$ ).



**Tabla 3:** Análisis del número y crecimiento en longitud de raíces y brotes por estaca y número de callos por estaca de estacas cosechadas en invierno.

Tratamiento	% estacas brotadas	Brotes/ estaca	Longitud brotes (cm)	% estacas enraizadas	Raíces/ estaca	Longitud raíces (cm)	% estacas con callos	Callos/ estaca
IP0	36,7 c	2,5 a	1,54 a	0,0 a	0,0 a	0,00 ab	16,7 ab	1,4 a
IP50	36,7 c	2,2 a	2,11 ab	0,0 a	0,0 a	0,00 b	26,7 b	1,8 ab
IP100	33,3 bc	2,6 a	3,00 b	0,0 a	0,0 a	0,00 b	33,3 b	1,6 ab
IP250	40,0 c	2,6 a	2,25 b	10,0 c	2,3 c	11,45 ab	23,3 ab	1,0 a
IP500	26,7 ab	2,3 a	2,84 b	3,3 b	1,0 b	2,20 b	26,7 b	1,3 a
IT0	20,0 a	2,5 a	1,87 a	0,0 a	0,0 a	0,00 a	6,7 a	2,0 b
IT50	30,0 b	2,6 a	1,60 a	0,0 a	0,0 a	0,00 a	6,7 a	2,5 b
IT100	30,0 b	2,2 a	1,95 a	0,0 a	0,0 a	0,00 a	16,7 ab	1,2 a
IT250	20,0 a	3,0 a	2,31 ab	0,0 a	0,0 a	0,00 a	20,0 ab	1,3 a
IT500	30,0 b	1,7 a	1,76 a	0,0 a	0,0 a	0,00 a	25,0 b	1,7 ab

Medias seguidas por la misma letra no presentan diferencias significativas en la columna según LSD ( $p < 0.05$ ).



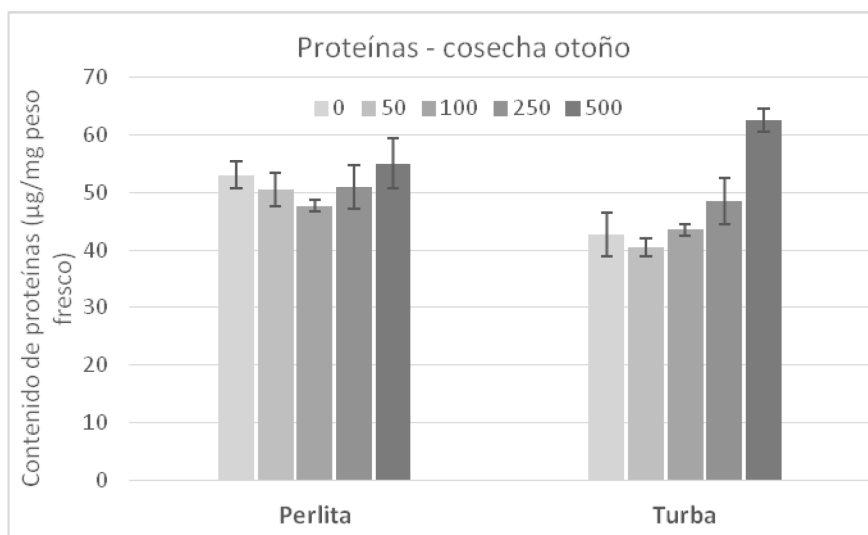
**Figura 8:** Brotes y raíces de estacas con 250 ppm de AIB en sustrato tierra-perlita cosechadas en invierno.



**Figura 9:** Brotes, callos y raíces de estacas con 500 ppm de AIB en sustrato tierra-perlita cosechadas en invierno.

#### **Análisis de contenido de proteínas solubles**

En los tratamientos de estacas cosechadas en otoño, se observaron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de proteínas (Tabla 4). Mediante el test de comparaciones múltiples LSD de Fisher se pudo observar que los tratamientos con mayor contenido de proteínas son los de 500 ppm de AIB en ambas mezclas de sustratos (OP500 Y OT500). Los menores valores promedios corresponden a los tratamientos con turba, y en estos, se observa un aumento de las proteínas a medida que aumenta la concentración de AIB (Gráfico 1).



**Gráfico 1:** Contenido de proteínas ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  peso fresco) de estacas cosechadas en otoño.

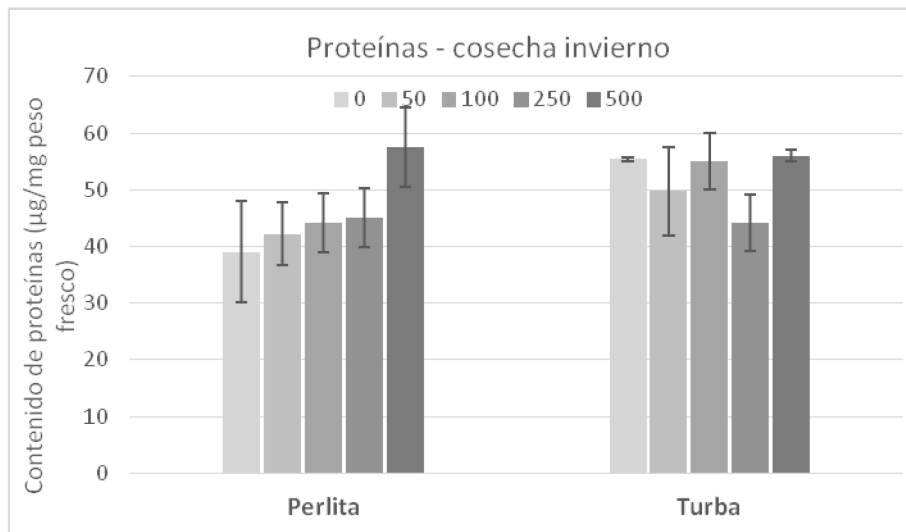
**Tabla 4:** Análisis estadístico del contenido de proteínas ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  peso fresco) en las estacas cosechadas en otoño.

Tratamiento	n	Media
T50	3	40,45 a
T0	3	42,66 ab
T100	3	43,48 ab
P100	3	47,71 bc
T250	3	48,57 bcd
P50	3	50,51 cd
P250	3	51,00 cd
P0	3	53,04 cd
P500	3	55,00 d
T500	3	62,52 e

**F = 8,72 p-valor < 0,0001**

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

En las estacas cosechadas en invierno, se observaron diferencias estadísticamente significativas en el contenido de proteínas (Tabla 5). Mediante el test de comparaciones múltiples se pudo observar que en este caso también los tratamientos con mayor contenido de proteínas son IP500 e IT500. Los menores valores promedios corresponden a los tratamientos con perlita, y en estos, se observa un aumento de las proteínas a medida que aumenta la concentración de AIB. Si se analiza el contenido de proteínas de los tratamientos que enraizaron (IP250 e IP500), se puede observar que estos son los que mayor contenido de proteínas presentaron de los tratamientos de la mezcla tierra-perlita (Gráfico 2).



**Gráfico 2:** Contenido de proteínas ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  peso fresco) de estacas cosechadas en invierno.

Tabla 5: Análisis estadístico del contenido de proteínas de estacas cosechadas en invierno.

Tratamiento	n	Media
P0	3	39,03 a
P50	3	42,23 ab
P100	3	44,13 ab
T250	3	44,22 ab
P250	3	45,00 ab
T50	3	49,74 bc
T100	3	55,05 c
T0	3	55,39 c
T500	3	56,02 c
P500	3	57,56 c

F = 3,97 p-valor = 0,0049

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

#### Análisis de contenido de azúcares solubles totales y reductores

Respecto al contenido de azúcares totales, en las estacas cosechadas en otoño se observaron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 6). Con el test de comparaciones múltiples LSD de Fisher se puede observar que el tratamiento con mayor contenido de azúcares totales es el que obtuvo estacas enraizadas (OP250) (Gráfico 3).

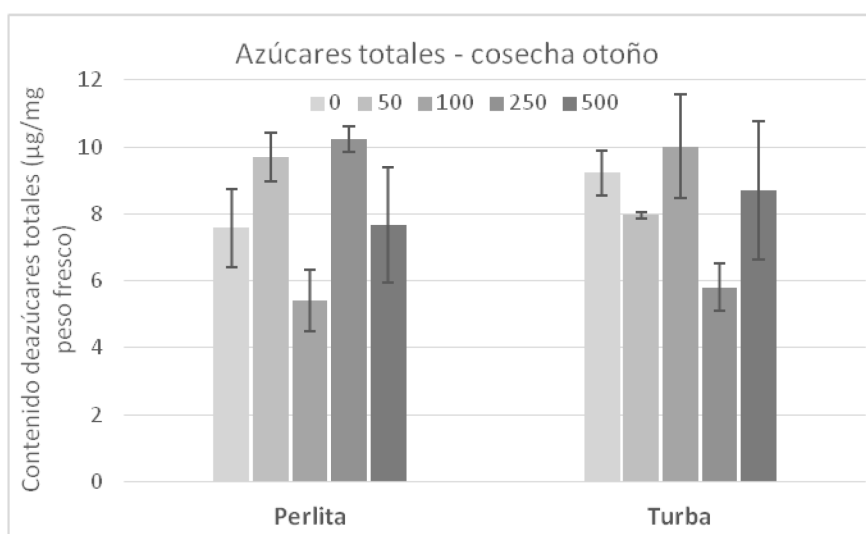


Gráfico 3: Contenido de azúcares solubles totales ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  peso fresco) de estacas cosechadas en otoño.

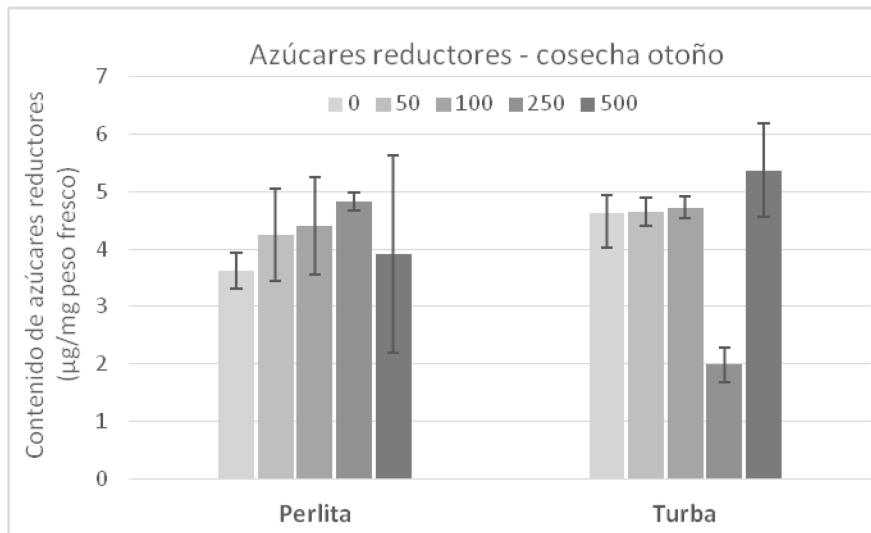
**Tabla 6:** Análisis estadístico de contenido de azúcares solubles totales de estacas cosechadas en otoño.

Tratamiento	n	Media
P100	3	5,41 a
T250	3	5,81 ab
P0	3	7,58 bc
P500	3	7,68 bc
T50	3	7,96 cd
T500	3	8,70 cde
T0	3	9,23 cde
P50	3	9,69 de
T100	3	10,01 e
P250	3	10,24 e

F = 6,27 p-valor = 0,003

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

Al analizar el contenido de azúcares reductores en las estacas recolectadas en otoño se observaron diferencias estadísticamente significativas (Tabla 7). Con el test de comparaciones múltiples también se puede observar que el tratamiento que obtuvo estacas enraizadas (OP250) presentó mayores valores medios de azúcares reductores (Gráfico 4) (Figura 10).



**Gráfico 4:** Contenido de azúcares solubles reductores ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  peso fresco) de estacas cosechadas en otoño.

**Tabla 7:** Análisis estadístico del contenido de azúcares solubles reductores de estacas cosechadas en otoño.

Tratamiento	n	Media
T250	3	1,99 a
P0	3	3,62 b
P500	3	4,00 b
T50	3	4,24 bc
P100	3	4,40 bc
T0	3	4,64 bc
T50	3	4,65 bc
T100	3	4,73 bc
P250	3	4,83 bc
T500	3	5,37 c

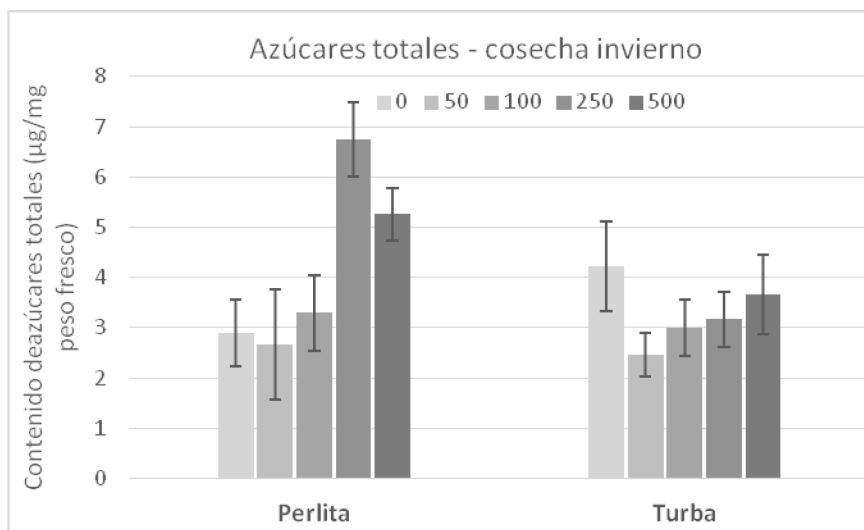
F = 4,59 p-valor = 0,0022

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).



**Figura 10:** Tubos con solución resultante en la determinación de azúcares solubles totales (a la izquierda) y reductores (a la derecha).

En los tratamientos de estacas cosechadas en invierno, en el contenido de azúcares totales se observaron diferencias significativas (Tabla 8). A partir del test de comparaciones múltiples se pudo observar que los tratamientos IP250 e IP500 presentaron valores medios de contenido de azúcares totales significativamente mayores, que son los tratamientos que presentaron estacas enraizadas (Gráfico 5).



**Gráfico 5:** Contenido de azúcares solubles totales ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  peso fresco) de estacas cosechadas en invierno.

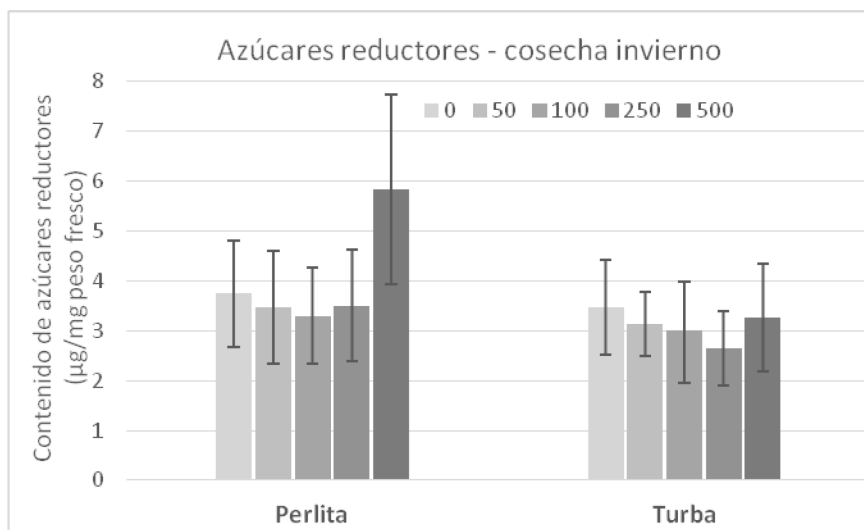
**Tabla 8:** Análisis estadístico del contenido de azúcares solubles totales de estacas cosechadas en invierno.

Tratamiento	n	Media
T50	3	2,46 a
P50	3	2,66 a
P0	3	2,89 a
T100	3	3,00 ab
T250	3	3,16 ab
P100	3	3,30 ab
T500	3	3,65 ab
T0	3	4,22 bc
P500	3	5,25 c
P250	3	6,74 c

$F = 10,26$   $p\text{-valor} < 0,0001$

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

Respecto al contenido de azúcares solubles reductores se observaron diferencias significativas (Tabla 9). A partir del test de comparaciones múltiples se pudo observar que el tratamiento IP500 fue el que presentó valores medios de contenido de azúcares reductores significativamente mayores, tratamiento que consiguió los mejores resultados en enraizamiento (Gráfico 6).



**Gráfico 6:** Contenido de azúcares solubles reductores ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  peso fresco) de estacas cosechadas en invierno.

**Tabla 9:** Análisis estadístico del contenido de azúcares solubles reductores de estacas cosechadas en invierno.

Tratamiento	n	Media
T250	3	2,64 a
T100	3	2,82 a
P100	3	3,05 a
T50	3	3,14 a
T500	3	3,26 a
P50	3	3,46 a
T0	3	3,46 a
P250	3	3,49 a
P0	3	3,74 a
P500	3	6,00 b

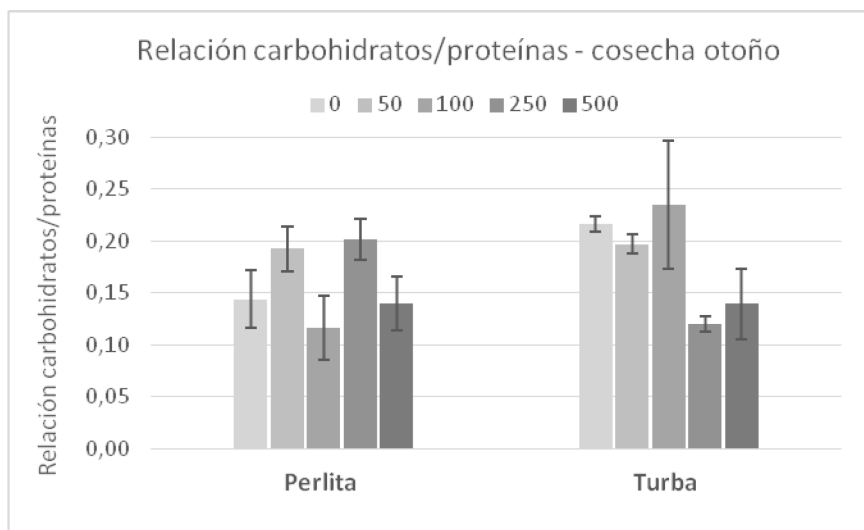
$F = 1,9$   $p\text{-valor} = 0,112$

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

#### Análisis de la relación carbohidratos/proteínas

En los tratamientos de cosecha en otoño, se observaron diferencias estadísticamente significativas en la relación carbohidratos/proteínas (Tabla 10). Mediante el análisis de comparaciones múltiples, se observó que el tratamiento que obtuvo valores significativamente mayores de relación carbohidratos/proteínas es aquel donde se obtuvieron estacas enraizadas (OP250) (Gráfico 7).





**Gráfico 7:** Relación de carbohidratos/proteínas de estacas cosechadas en otoño.

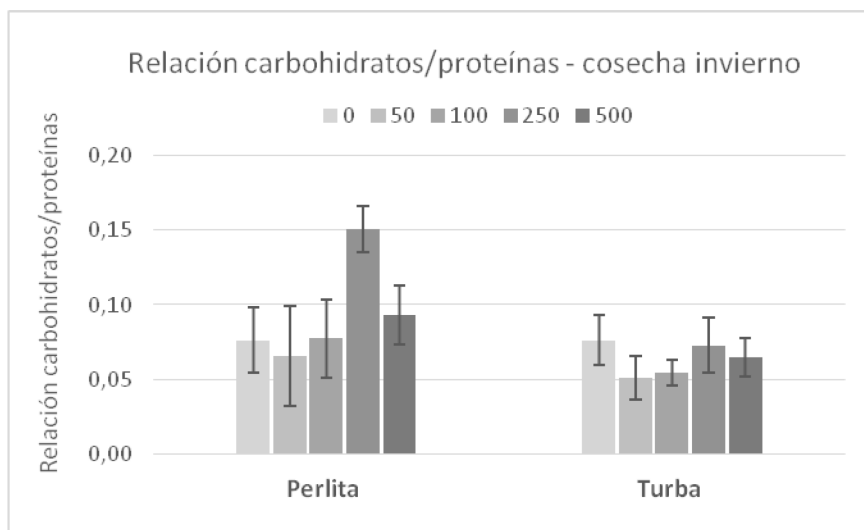
**Tabla 10:** Análisis estadístico de la relación de carbohidratos/proteínas de estacas cosechadas en otoño.

Tratamiento	n	Media
P100	3	0,11 a
T250	3	0,12 a
T500	3	0,14 a
P500	3	0,14 a
P0	3	0,14 a
P50	3	0,19 b
T50	3	0,20 b
P250	3	0,20 b
T0	3	0,22 b
T100	3	0,23 b

**F = 6,57 p-valor = 0,002**

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

En los tratamientos de estacas cosechadas en invierno, se observaron diferencias estadísticamente significativas en la relación carbohidratos/proteínas (Tabla 11). Con el análisis de comparaciones múltiples LSD de Fisher, se puede observar que los tratamientos que obtuvieron valores significativamente mayores de relación carbohidratos/proteínas también corresponden con los que se obtuvieron estacas enraizadas (IP250 e IP500) (Gráfico 8).



**Gráfico 8:** Relación de carbohidratos/proteínas de estacas cosechadas en invierno.

**Tabla 11:** Análisis estadístico de la relación de carbohidratos/proteínas de estacas cosechadas en invierno.

Tratamiento	n	Media
T50	3	0,05 a
T100	3	0,05 a
T500	3	0,07 ab
P50	3	0,07 ab
T0	3	0,07 ab
T250	3	0,08 ab
P0	3	0,08 ab
P100	3	0,08 ab
P500	3	0,09 c
P250	3	0,15 c

**F = 5,8 p-valor = 0,005**

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ ).

Los contenidos de proteínas no tuvieron diferencias marcadas en cada época de recolección de estacas, pero sí hubo diferencias en el contenido de azúcares totales, presentando mayor contenido las estacas cosechadas en otoño. Así mismo, en cuanto a la relación carbohidratos/proteínas se dieron valores promedios más altos en general en las estacas cosechadas en otoño.

Los contenidos de proteínas y carbohidratos solubles de las estacas que enraizaron coinciden con lo planteado anteriormente, se observa que el contenido de carbohidratos fue elevado y la relación carbohidratos/proteínas también resultó más alta respecto a los tratamientos que no presentaron enraizamiento. Soto *et al* (2006) encontraron que el contenido de azúcares solubles totales en estacas de *Ficus*

*benjamina* L. cosechadas en tres épocas del año diferentes (primavera, verano y otoño) varió poco, pero se observaron mayores contenidos en primavera, época en la cual se obtuvieron los mayores porcentajes de enraizamiento. Estos autores plantean que los mejores resultados observados en el porcentaje de enraizamiento, número de raíces, volumen de raíces, altura y número de hojas durante la época de primavera se pueden relacionar con el inicio de desarrollo en que se encontraban los árboles y con el mayor contenido de carbohidratos solubles presentes en los esquejes. En las estacas cosechadas en verano se observaron los resultados más bajos en estas variables y también el menor contenido de azúcares solubles totales.

## **CONCLUSIÓN Y RECOMENDACIONES**

---

Si bien el porcentaje de estacas de fresno americano que enraizaron fue bajo, se observó un efecto positivo de la aplicación exógena de AIB. Los tratamientos que se plantaron sin agregado de hormonas no presentaron estacas enraizadas. Esto muestra la importancia de la aplicación exógena de reguladores de crecimiento para la propagación por estacas de especies difíciles de enraizar. En estudios posteriores se podría plantear la aplicación de concentraciones mayores de reguladores de crecimiento para observar su efecto en la rizogénesis.

Los resultados de este trabajo, permiten reconocer la importancia de la edad de la planta madre en la propagación por estacas de especies difíciles de enraizar, como es el fresno americano. Se recomienda en estudios posteriores utilizar material juvenil o rejuvenecido mediante recepado o podas severas realizadas el año anterior a la cosecha de estacas.

La época de recolección de material tuvo un efecto significativo sobre el enraizamiento y la brotación. La mejor época de cosecha fue a fines de invierno, en la cual se observó mayor porcentaje de enraizamiento y brotación, número de raíces y brotes por estaca y longitud de brotes y raíces.

El sustrato más adecuado resultó ser la mezcla de tierra - perlita. Al no haber abundante información acerca del sustrato óptimo para la propagación de estacas de cada especie, se recomienda realizar previo a los ensayos de estacas, un estudio de las características físico-químicas del sustrato, principalmente en mezclas, y así evaluar si cumple las necesidades de cada especie.

Se comprobó que en los tratamientos que obtuvieron estacas enraizadas, presentaron los mayores valores de carbohidratos solubles totales y reductores y una alta relación carbohidratos/proteínas.

Respecto a la formación de callo, se obtuvo resultados similares a estudios que muestran que no existe una relación directa con la formación de raíces adventicias, como se observó en este trabajo.

## BIBLIOGRAFÍA

---

**Abedini, W.** 2005. Propagación vegetativa de *Parkinsonia aculeata* L. por estaquillado. Revista Quebracho, vol. 12, pp. 23-33. Universidad de Santiago del Estero, Argentina.

**Alvarado, M. & Solano, J.A.** 2002. Medios o sustratos en la producción de viveros y plantas. Costa Rica. Proyecto regional de fortalecimiento de la vigilancia fitosanitaria en cultivos de exportación no tradicional – Vifinex. República de China – OIRSA. Disponible en: <http://www.cropprotection.es/documentos/Compostaje/Sustratos-para-Viveros.pdf>. Último acceso: octubre 2017.

**Benassi, A.H., Opel R.J., Frangi P.C., De Martino, C., Roussy L.M. & Piñol M.** 2006. El sitio. Planeamiento y Diseño del paisaje. Cátedra de planeamiento y diseño del paisaje, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. Buenos Aires, Argentina.

**Benassi, A.H.** 2015. Ciudad Botánica. Oasis del desierto urbano. Naturación de ciudades y hábitat. 1a edición. Buenos Aires, Argentina.

**Blendinger, P.G., Bravo, A., Cabello, J.C., Chelela, O., De la Vega de Díaz Ricci, A.M., Gioia, A., Gómez Romero, S.E., Grau, A., Haedo, J., Kirschbaum, C.F., Kortsarz, A.M., Lucas, J. & Paolini, L.** 2012. Guía de Arbolado de Tucumán. 1a ed. Universidad Nacional de Tucumán. Tucumán, Argentina. Disponible en: <http://www.guiadearbolado.com.ar/>. Último acceso: octubre 2017

**Bonnin, S.M.** 2017. Evaluación de madres de *Fraxinus pennsylvanica* Marshall para la producción de plantines, a partir de su progenie. Buenos Aires, Argentina. Disponible en: [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/59114/Documento\\_completo\\_PDF.pdf?sequence=3](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/59114/Documento_completo_PDF.pdf?sequence=3). Último acceso: octubre 2017.

**Bradford, M.M.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72, pp. 248-254.

**CABA.** 2016. Radiografía del arbolado en Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina. Disponible en: <http://www.buenosaires.gob.ar/noticias/radiografia-del-arbolado-en-buenos-aires>. Último acceso: octubre 2017.

**Cabrera, R.I.** 1999. Propiedades, uso y manejo de sustratos de cultivo para la producción de plantas en maceta. New Jersey. USA. Revista Chapingo, Serie Horticultura 5 (1): pp. 5-11.

**Carbone, A., Giménez, D.O. & Beltrano, J.** 2014. Introducción al estudio de las hormonas y reguladores vegetales. Cátedra de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. Buenos Aires, Argentina.

**Caso, O.H.** 1992. Juvenilidad, rejuvenecimiento y propagación vegetativa de las especies leñosas. *Revista Agriscientia*, vol. IX, n° 1, pp. 5-16.

**Castrillón, J.C., Carvajal, E., Ligarreto, G. & Magnitskiy, S.** 2008. El efecto de auxinas sobre el enraizamiento de las estacas de agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz) en diferentes sustratos. Universidad Nacional de Colombia Bogotá, Colombia. *Revista Agronomía Colombiana*, vol. 26, n° 1, pp. 16-22.

**Cronin, D. & Smith, S.** 1979. A simple and rapid procedure for the analysis of reducing, total and individual sugars in potato. *Potato Res.* 22, pp. 99-105.

**De Vastey, J.** 1962. Estudios sobre propagación de especies forestales por estacas. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Centro Tropical de Investigación y Enseñanza para Graduados, Turrialba, Costa Rica.

**Hartmann, H. T. & Kester, D. E.** 1998. Propagación de plantas. Principios y prácticas. 6ta edición. Ed. CECSA. México.

**Henríquez Madariaga, E.A.** 2004. Evaluación de tres factores de enraizamiento en estacas de morera (*Morus alba*). Santiago, Chile. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/101738>. Último acceso: octubre 2017.

**Inzunza Olave, R.J.** 2007. Efecto de la concentración de nutrientes sobre la producción de estacas de setos hidropónicos de *Nothofagus nervosa* (Phil.) Dim. et Mil. Valdivia, Chile. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fifi.63e/doc/fifi.63e.pdf>. Último acceso: octubre 2017.

**Lell, J.** 2006. Arbolado Urbano. Implantación y cuidados de árboles para veredas. 1er edición, Buenos Aires. Argentina.

**Loewe, V., Delard, M. & Subir, P.** 1997. Monografía de fresno (*Fraxinus excelsior*). INFOR, Chile.

**López Acosta, F.J., Guío Tenjo, N.R., Fischer, G. & Miranda Lasprilla, D.** 2008. Propagación de uchuva (*Physalis peruviana* L.) mediante diferentes tipos de esquejes y

sustratos. Revista Facultad Nacional de Agronomía - Medellín, vol. 61, n° 1, pp. 4347-4357 Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.

**Mata Quirós, A.** 2006. Establecimiento de un sistema de propagación vegetativa de genotipos superiores de cacao (*Theobroma cacao* L.) por medio de ramillas en el catie. Cartago, Costa Rica. Disponible en: <https://repositoriotec.tec.ac.cr/bitstream/handle/2238/441/Propagacion%20vegetativa%20de%20cacao.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Último acceso: octubre 2017.

**Moreno, N.H., Giovanni Álvarez-Herrera, J., Balaguera-López, H.E. & Fischer, G.** 2009. Propagación asexual de uchuva (*Physalis peruviana* L.) en diferentes sustratos y a distintos niveles de auxina. Tunja, Colombia. Agronomía Colombiana, vol. 27, n° 3, pp. 341-348.

**Nowak, D.J., Dwyer J.F. & Childs, G.** 1997. Los beneficios y costos del enverdecimiento urbano. Áreas Verdes Urbanas en Latinoamérica y el Caribe, p.17-38.

**Núñez, C.O.** 2000. El arbolado público: consideraciones básicas para su gestión. Revista Voces n° 24. Universidad Nacional de Río Cuarto. Córdoba, Argentina.

**Rivera Rodríguez, M.O., Vargas Hernández, J.J., López Upton, J., Villegas Monter, A. & Jiménez Casa, M.** 2016. Enraizamiento de estacas de *Pinus patula*. Revista Fitotecnia Mexicana, vol. 39, n° 4, pp. 385-392. Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. Chapingo, México.

**Roussy, L & Abedini, W.** 2012. Enraizamiento de estaquillas de *Fraxinus pennsylvanica* Marsh. Fresno americano. XX Jornadas de Jovens Pesquisadores do AUGM. Curitiba, Universidad Federal do Paraná, Brasil. Disponible en: [http://www.jornadasaugm.ufpr.br/augm\\_cd/](http://www.jornadasaugm.ufpr.br/augm_cd/). Último acceso: abril 2017.

**Ruscitti, M., Beltrano, J. & Giménez, D.O.** 2014. Biotecnología vegetal. Cultivo de tejidos vegetales. Cátedra de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, UNLP. Buenos Aires, Argentina.

**Salvarrey Mendoza, M.J.** 2008. Evaluación de diferentes técnicas de propagación vegetativa en “guayabo del país” (*Acca sellowiana* (Berg.) Burret.). Montevideo, Uruguay. Disponible en: <http://www.guayubira.org.uy/monte/bibliografia/SalvarreyGuayabo.pdf>. Último acceso: octubre 2017.

**Santelices, R. & Cabello, A.** 2006. Efecto del ácido indolbutírico, del tipo de la cama de arraigamiento, del sustrato, y del árbol madre en la capacidad de arraigamiento de estacas de *Nothofagus glauca* (Phil.). El Colorado, Chile. Revista Chilena de Historia Natural, vol. 79, n° 1, p 55-64.

**Sisaro D. & Hagiwara J.C.** 2016. Propagación vegetativa por medio de estacas. Ediciones INTA. Libro digital, PDF. 1a edición. Hurlingham, Buenos Aires.

**Soto, L.E., Jasso Mata, J., Vargas Hernández, J.J., Gonzales Rosas, H. & Cetina Alcalá, V.M.** 2006. Efecto de diferentes dosis de AIB sobre el enraizamiento de *Ficus benjamina* L. en diferentes épocas del año. Revista Ra Ximhai, vol. 2, n° 3, pp. 795-814. Universidad Autónoma Indígena de México. El Fuerte, México.

**Soto Figueroa, P.C.** 2004. Reproducción vegetativa por estacas en *Amomyrtus luma* (luma), *Amomyrtus meli* (meli) y *Luma apiculata* (arrayán) mediante el uso de plantas madres jóvenes y adultas. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias Forestales. Valdivia, Chile. Disponible en: <http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/4327/fifs718r.pdf>. Último acceso: octubre 2017.

**Soudre, M., Vidal, F., Mori, J., Guerra, H., Mesen, F. & Perez, F.** 2010. Propagación vegetativa de marupa (*Simarouba amara* Aubl.) mediante enraizamiento de estacas juveniles en propagador de subirrigación. Pucallpa, Perú. Revista Folia Amazónica, vol. 19, n° 1-2, pp. 61-68.

**Spavento, E., Keil, G., Murace, M., Luján M. & Bertoli, B.** 2009. Usos potenciales de la madera de roble europeo y fresno americano cultivados en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Universidad de Talca, Chile. 4º Congreso Chileno de Ciencias Forestales.

**Tonello, M.E., Chiesa, A. & Fernández, C.** 2003. El arbolado en la Provincia de Buenos Aires. Dirección de Desarrollo Forestal. Ministerio de Asuntos Agrarios de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. Disponible en: <http://www.maa.gba.gov.ar/2010/SubPED/Agricultura/Bosques%20y%20Forestacion/arboloado-urbano.php>. Último acceso: octubre 2017.

**USDA-NRCS (Natural Resources Conservation Service - United States Department of Agriculture).** 2013. Plant guide. Green ash (*Fraxinus pennsylvanica* Mash.). Texas, EE.UU. Disponible en: [https://plants.usda.gov/plantguide/pdf/pg\\_frpe.pdf](https://plants.usda.gov/plantguide/pdf/pg_frpe.pdf). Último acceso: octubre 2017.



**Villaverde, R. & Avogadro, E.** 2014. Jornada de capacitación en arbolado público en el vivero “Carlos Darwin”. Buenos Aires, Argentina. Disponible en: [http://buenosairesforestal.blogspot.com.ar/2014\\_10\\_01\\_archive.html](http://buenosairesforestal.blogspot.com.ar/2014_10_01_archive.html). Último acceso: octubre 2017.

**Zanoni Mendiburu, C.A.** 1975. Propagación vegetativa por estacas de ocho especies forestales. Universidad de Costa Rica. Disponible en: <http://repositorio.bibliotecaorton.catie.ac.cr/handle/11554/5470?show=full>. Último acceso: octubre 2017.